



⑮ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 198 16 395 A 1**

⑳ Aktenzeichen: 198 16 395.9
㉒ Anmeldetag: 3. 4. 98
㉔ Offenlegungstag: 7. 10. 99

㉕ Int. Cl.⁶:
C 12 N 15/11
C 07 H 21/04
C 12 N 15/63
C 12 N 1/21
C 12 N 1/19
C 12 N 5/10
C 07 K 16/18
C 07 K 14/435
A 61 K 38/17
// (C12N 1/21, C12R
1:19) G01N 33/68,
33/15

DE 198 16 395 A 1

㉑ Anmelder:
metaGen Gesellschaft für Genomforschung mbH,
14195 Berlin, DE

㉒ Erfinder:
Rosenthal, André, Prof., Dr., 10115 Berlin, DE;
Specht, Thomas, Dr., 12163 Berlin, DE; Hinzmann,
Bernd, Dr., 13127 Berlin, DE; Schmitt, Armin, Dr.,
14197 Berlin, DE; Pilarsky, Christian, Dr., 14532
Stahnsdorf, DE; Dahl, Edgar, Dr., 14480 Potsdam,
DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Der Inhalt dieser Schrift weicht von den am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

㉓ Menschliche Nukleinsäuresequenzen aus Ovar-Normalgewebe

㉔ Es werden menschliche Nukleinsäuresequenzen
-mRNA, cDNA, genomische Sequenzen aus Ovarnormal-
gewebe, die für Genprodukte oder Teile davon kodieren,
und deren Verwendung beschrieben.
Es werden weiterhin die über die Sequenzen erhältlichen
Polypeptide und deren Verwendung beschrieben.

E .98 16 395 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft menschliche Nukleinsäuresequenzen aus normalem Ovargewebe, die für Genprodukte oder Teile davon kodieren, deren funktionale Gene, die mindestens ein biologisch aktives Polypeptid kodieren und deren Verwendung.

Die Erfindung betrifft weiterhin die über die Sequenzen erhältlichen Polypeptide und deren Verwendung.

Eine der Hauptkrebstodesursachen bei Frauen ist das Ovarialkarzinom, für dessen Bekämpfung neue Therapien notwendig sind. Bisher verwendete Therapien, wie z. B. Chemotherapie, Hormontherapie oder chirurgische Entfernung des Tumorgewebes, führen häufig nicht zu einer vollständigen Heilung.

Das Phänomen Krebs geht häufig einher mit der Über- oder Unterexpression gewisser Gene in den entarteten Zellen, wobei noch unklar ist, ob diese veränderten Expressionsraten Ursache oder Folge der malignen Transformation sind. Die Identifikation solcher Gene wäre ein wesentlicher Schritt für die Entwicklung neuer Therapien gegen Krebs. Der spontanen Entstehung von Krebs geht häufig eine Vielzahl von Mutationen voraus. Diese können verschiedenste Auswirkungen auf das Expressionsmuster in dem betroffenen Gewebe haben, wie z. B. Unter- oder Überexpression, aber auch Expression verkürzter Gene. Mehrere solcher Veränderungen durch solche Mutationskaskaden können schließlich zu bösartigen Entartungen führen. Die Komplexität solcher Zusammenhänge erschwert die experimentelle Herangehensweise sehr.

Für die Suche nach Kandidatengen, d. h. Genen, die im Vergleich zum Tumorgewebe im normalen Gewebe stärker exprimiert werden, wird eine Datenbank verwendet, die aus sogenannten ESTs besteht. ESTs (Expressed Sequence Tags) sind Sequenzen von cDNAs, d. h. revers transkribierten mRNAs, den Molekülen also, die die Expression von Genen widerspiegeln. Die EST-Sequenzen werden für normale und entartete Gewebe ermittelt. Solche Datenbanken werden von verschiedenen Betreibern z. T. kommerziell angeboten. Die ESTs der LifeSeq-Datenbank, die hier verwendet wird, sind in der Regel zwischen 150 und 350 Nukleotide lang. Sie repräsentieren ein für ein bestimmtes Gen unverkennbares Muster, obwohl dieses Gen normalerweise sehr viel länger ist (> 2000 Nukleotide). Durch Vergleich der Expressionsmuster von normalen und Tumorgewebe können ESTs identifiziert werden, die für die Tumorentstehung und -proliferation wichtig sind. Es besteht jedoch folgendes Problem: Da durch unterschiedliche Konstruktionen der cDNA-Bibliotheken die gefundenen EST-Sequenzen zu unterschiedlichen Regionen eines unbekannten Gens gehören können, ergäbe sich in einem solchen Fall ein völlig falsches Verhältnis des Vorkommens dieser ESTs in dem jeweiligen Gewebe. Dieses würde erst bemerkt werden, wenn das vollständige Gen bekannt ist und somit die ESTs dem gleichen Gen zugeordnet werden können.

Es wurde nun gefunden, daß diese Fehlermöglichkeit verringert werden kann, wenn zuvor sämtliche ESTs aus dem jeweiligen Gewebstyp assembliert werden, bevor die Expressionsmuster miteinander verglichen werden. Es wurden also überlappende ESTs ein und desselben Gens zu längeren Sequenzen zusammengefaßt (s. Fig. 1, Fig. 2a und Fig. 3). Durch diese Verlängerung und damit Abdeckung eines wesentlich größeren Genbereichs in jeder der jeweiligen Banken sollte der oben beschriebene Fehler weitgehendst vermieden werden. Da es hierzu keine bestehenden Softwareprodukte gab., wurden Programme für das Assemblieren von genomischen Abschnitten verwendet, die abgewandelt eingesetzt und durch eigene Programme ergänzt wurden. Ein Flowchart der Assemblierungsprozedur ist in Fig. 2b1-2b4 dargestellt.

Es konnten nun die Nukleinsäure-Sequenzen Seq. ID No. 1 bis Seq. ID No. 103 gefunden werden, die als Kandidatengene beim Ovarialkarzinom eine Rolle spielen.

Von besonderem Interesse sind die Nukleinsäure-Sequenzen Seq. ID Nos. 1-45.

Die Erfindung betrifft somit Nukleinsäure-Sequenzen, die ein Genprodukt oder ein Teil davon kodieren, umfassend

- a) eine Nukleinsäure-Sequenz, ausgewählt aus der Gruppe der Nukleinsäure-Sequenzen Seq ID Nos. 1-45.
- b) eine allelische Variation der unter a) genannten Nukleinsäure-Sequenzen oder
- c) eine Nukleinsäure-Sequenz, die komplementär zu den unter a) oder b) genannten Nukleinsäure-Sequenzen ist.

Die Erfindung betrifft weiterhin eine Nukleinsäure-Sequenz gemäß einer der Sequenzen Seq ID Nos. 1-45 oder eine komplementäre oder allelische Variante davon und die Nukleinsäure-Sequenzen davon, die eine 90%ige bis 95%ige Homologie zu einer humanen Nukleinsäure-Sequenz aufweisen.

Die Erfindung betrifft auch die Nukleinsäure-Sequenzen Seq. ID No. 1 bis Seq. ID No. 103, die im Ovarnormalgewebe erhöht exprimiert sind.

Die Erfindung betrifft ferner Nukleinsäure-Sequenzen, umfassend einen Teil der oben genannten Nukleinsäure-Sequenzen, in solch einer ausreichenden Größe, daß sie mit den Sequenzen Seq. ID Nos. 1-45 hybridisieren.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäure-Sequenzen weisen im allgemeinen eine Länge von mindestens 50 bis 4500 bp, vorzugsweise eine Länge von mindestens 150 bis 4000 bp, insbesondere eine Länge von 450 bis 3500 bp auf.

Mit den erfindungsgemäßen Teilsequenzen Seq. ID Nos. 1-45 können gemäß gängiger Verfahrenspraxis auch Expressionskassetten konstruiert werden, wobei auf der Kassette mindestens eine der erfindungsgemäßen Nukleinsäure-Sequenzen zusammen mit mindestens einer dem Fachmann allgemein bekannten Kontroll- oder regulatorischen Sequenz, wie z. B. einem geeigneten Promotor, kombiniert wird. Die erfindungsgemäßen Sequenzen können in sense oder antisense Orientierung eingefügt sein.

In der Literatur sind eine große Anzahl von Expressionskassetten bzw. Vektoren und Promotoren bekannt, die verwendet werden können.

Unter Expressionskassetten bzw. Vektoren sind zu verstehen: 1. bakterielle, wie z. B. phagescript, pBs, ϕ X174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene), pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540, pRIT5 (Pharmacia), 2. eukaryontische, wie z. B. pWLneo, pSV2cat, pOG44, pXT1, pSG (Stratagene), pSVK3, pBPV, pMSG, pSVL (Pharmacia).

Unter Kontroll- oder regulatorischer Sequenz sind geeignete Promotoren zu verstehen. Hierbei sind zwei bevorzugte

Vektoren der pKK232-8 und der PCM7 Vektor. Im einzelnen sind folgende Promotoren gemeint: lacI, lacZ, T3, T7, gpt, lambda P_R, trc, CMV, HSV Thymidin-Kinase, SV40, LTRs aus Retrovirus und Maus Metallothionein-I.

Die auf der Expressionskassette befindlichen DNA-Sequenzen können ein Fusionsprotein kodieren, das ein bekanntes Protein und ein biologisch aktives Polypeptid-Fragment umfaßt.

Die Expressionskassetten sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäure-Fragmente können zur Herstellung von Vollängen-Genen verwendet werden. Die erhältlichen Gene sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Nukleinsäure-Sequenzen, sowie die aus der Verwendung erhältlichen Gen-Fragmente.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäure-Sequenzen können mit geeigneten Vektoren in Wirtszellen gebracht werden, in denen als heterologer Teil die auf den Nukleinsäure-Fragmenten enthaltene genetischen Information befindet, die exprimiert wird.

Die die Nukleinsäure-Fragmente enthaltenden Wirtszellen sind ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Geeignete Wirtszellen sind z. B. prokaryontische Zellsysteme wie E. coli oder eukaryontische Zellsysteme wie tierische oder humane Zellen oder Hefen.

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäure-Sequenzen können in sense oder antisense Form verwendet werden.

Die Herstellung der Polypeptide oder deren Fragment erfolgt durch Kultivierung der Wirtszellen gemäß gängiger Kultivierungsmethoden und anschließender Isolierung und Aufreinigung der Peptide bzw. Fragmente, ebenfalls mittels gängiger Verfahren. Die Erfindung betrifft ferner Nukleinsäure-Sequenzen, die mindestens eine Teilsequenz eines biologisch aktiven Polypeptids kodieren.

Ferner betrifft die vorliegende Erfindung Polypeptid-Teilsequenzen, sogenannte ORF (open-reading-frame)-Peptide, gemäß den Sequenzprotokollen ORF ID Nos. 104-217.

Die Erfindung betrifft ferner die Polypeptid-Sequenzen, die mindestens eine 80%ige Homologie, insbesondere eine 90%ige Homologie zu den erfindungsgemäßen Polypeptid-Teilsequenzen der ORF. ID Nos. 104-217 aufweisen.

Die Erfindung betrifft auch Antikörper, die gegen ein Polypeptid oder Fragment davon gerichtete sind, welche von den erfindungsgemäßen Nukleinsäuren der Sequenzen Seq. ID No. 1 bis Seq. ID 103 kodiert werden.

Unter Antikörper sind insbesondere monoklonale Antikörper zu verstehen.

Die erfindungsgemäßen Polypeptide der Sequenzen ORF ID Nos. 104-217 können auch als Tool zum Auffinden von Wirkstoffen gegen das Ovarialkarzinom verwendet werden, was ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist.

Ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung der Nukleinsäure-Sequenzen gemäß den Sequenzen Seq. ID No. 1 bis Seq. ID No. 103 zur Expression von Polypeptiden, die als Tools zum Auffinden von Wirkstoffen gegen das Ovarialkarzinom verwendet werden können.

Die Erfindung betrifft auch die Verwendung der gefundenen Polypeptid-Teilsequenzen ORF. ID No. 104 bis Seq. ID No. 217 als Arzneimittel in der Gentherapie zur Behandlung gegen das Ovarialkarzinom, bzw. zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung gegen das Ovarialkarzinom.

Die Erfindung betrifft auch Arzneimittel, die mindestens eine Polypeptid-Teilsequenz ORF. ID No. 104 bis 217 enthalten.

Die gefundenen erfindungsgemäßen Nukleinsäure-Sequenzen können auch genomische oder mRNA-Sequenzen sein.

Die Erfindung betrifft auch genomische Gene, ihre Exon- und Intronstruktur und deren Spleißvarianten, erhältlich aus den cDNAs der Sequenzen Seq. ID No. 1 bis Seq. ID No. 103, sowie deren Verwendung zusammen mit geeigneten regulativen Elementen, wie geeigneten Promotoren und/oder Enhancern.

Mit den erfindungsgemäßen Nukleinsäuren (cDNA-Sequenzen) werden genomische BAC-, PAC- und Cosmid-Bibliotheken gescreent und über komplementäre Basenpaarung (Hybridisierung) spezifisch humane Klone isoliert. Die so isolierten BAC-, PAC- und Cosmid-Klone werden mit Hilfe der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisation auf Metaphasenchromosomen hybridisiert und entsprechende Chromosomenabschnitte identifiziert, auf denen die entsprechenden genomischen Gene liegen. BAC-, PAC- und Cosmid-Klone werden sequenziert, um die entsprechenden genomischen Gene in ihrer vollständigen Struktur (Promotoren, Enhancer, Silencer, Exons und Introns) aufzuklären. BAC-, PAC- und Cosmid-Klone können als eigenständige Moleküle für den Gentransfer eingesetzt werden (s. Fig. 5).

Die Erfindung betrifft auch BAC-, PAC- und Cosmid-Klone, enthaltend funktionelle Gene und ihre chromosomale Lokalisation, entsprechend den Sequenzen Seq. ID No. 1 bis Seq. ID No. 103, zur Verwendung als Vehikel zum Gentransfer.

Die Erfindung betrifft: Weiterhin eine Nukleinsäuresequenz gemäß einer der Sequenzen Seq ID Nos. 1, 2, 4, 8, 9, 21, 24, 26, 29, 30, 31, 36, 40, 42, 51, 53, 60, 68, 72, 73, 75, 78, 80, 81, 82, 87, 89, und 100, dadurch gekennzeichnet, daß sie in Ovarnormalgewebe und gleichzeitig in Pankreastumorgewebe erhöht exprimiert sind.

Die Erfindung betrifft weiterhin eine Nukleinsäuresequenz gemäß einer der Sequenzen Seq ID Nos. 5, 46, 49, 56, 61 und 77, dadurch gekennzeichnet, daß sie in Ovarnormalgewebe und gleichzeitig in Penistumorgewebe erhöht exprimiert sind.

Die Erfindung betrifft weiterhin eine Nukleinsäuresequenz Sequenz Seq ID No. 44, dadurch gekennzeichnet, daß sie im Ovarnormalgewebe und gleichzeitig in Nierentumorgewebe erhöht exprimiert sind.

Bedeutungen von Fachbegriffen und Abkürzungen

Nukleinsäuren = Unter Nukleinsäuren sind in der vorliegenden Erfindung zu verstehen: mRNA, partielle cDNA, vollständigen cDNA und genomische Gene (Chromosomen).

ORF = Open Reading Frame, eine definierte Abfolge von Aminosäuren die von der cDNA-Sequenz abgeleitet werden kann.

Contig = Eine Menge von DNA-Sequenzen, die aufgrund sehr großer Ähnlichkeiten zu einer Sequenz zusammengefaßt werden können (Consensus).

Singleton = Ein Contig, der nur eine Sequenz enthält.

Erklärung zu den Alignmentparametern

- 5 minimal initial match = minimaler anfänglicher Identitätsbereich
 maximum pads per read = maximale Anzahl von Insertionen
 maximum percent mismatch = maximale Abweichung in %

Erklärung der Abbildungen

10

Fig. 1 zeigt die systematische Gen-Suche in der Incyte LifeSeq Datenbank.

Fig. 2a zeigt das Prinzip der EST-Assemblierung.

Fig. 2b1-2b4 zeigt das gesamte Prinzip der EST-Assemblierung.

Fig. 3 zeigt die in silico Subtraktion der Genexpression in verschiedenen Geweben.

15 Fig. 4a zeigt die Bestimmung der gewebsspezifischen Expression über elektronischen Northern.

Fig. 4b zeigt den elektronischen Northern.

Fig. 5 zeigt die Isolierung von genomischen BAC- und PAC-Klonen.

Die nachfolgenden Beispiele erläutern die Herstellung der erfindungsgemäßen Nukleinsäure-Sequenzen, ohne die Erfindung auf diese Beispiele und Nukleinsäure-Sequenzen zu beschränken.

20

Beispiel 1

Suche nach Tumor-bezogenen Kandidatengenen

- 25 Zuerst wurden sämtliche ESTs des entsprechenden Gewebes aus der LifeSeq-Datenbank (vom Oktober 1997) extrahiert. Diese wurden dann mittels des Programms GAP4 des Staden-Pakets mit den Parametern 0% mismatch, 8 pads per read und einem minimalen match von 20 assembliert. Die nicht in die GAP4-Datenbank aufgenommenen Sequenzen (Fails) wurden erst bei 1% mismatch und dann nochmals bei 2% mismatch mit der Datenbank assembliert. Aus den Contigs der Datenbank, die aus mehr als einer Sequenz bestanden, wurden Consensussequenzen errechnet. Die Singletons der Datenbank, die nur aus einer Sequenz bestanden, wurden mit den nicht in die GAP4-Datenbank aufgenommenen Sequenzen bei 2% mismatch erneut assembliert. Wiederum wurden für die Contigs die Consensussequenzen ermittelt. Alle übrigen ESTs wurden bei 4% mismatch erneut assembliert. Die Consensussequenzen wurden abermals extrahiert und mit den vorherigen Consensussequenzen sowie den Singletons und den nicht in die Datenbank aufgenommenen Sequenzen abschließend bei 4% mismatch assembliert. Die Consensussequenzen wurden gebildet und mit den Singletons und
- 30 Fails als Ausgangsbasis für die Gewebsvergleiche verwendet. Durch diese Prozedur konnte sichergestellt werden, daß unter den verwendeten Parametern sämtliche Sequenzen von einander unabhängige Genbereiche darstellten.

Fig. 2b1-2b4 veranschaulicht die Verlängerung der Ovarnormalgewebe ESTs.

- Die so assemblierten Sequenzen der jeweiligen Gewebe wurden anschließend mittels des gleichen Programms miteinander verglichen (Fig. 3). Hierzu wurden erst alle Sequenzen des ersten Gewebes in die Datenbank eingegeben. (Daher war es wichtig, daß diese voneinander unabhängig waren.)
- 40 Dann wurden alle Sequenzen des zweiten Gewebes mit allen des ersten verglichen. Das Ergebnis waren Sequenzen, die für das erste bzw. das zweite Gewebe spezifisch waren, sowie welche, die in beiden vorkamen. Bei Letzteren wurde das Verhältnis der Häufigkeit des Vorkommens in den jeweiligen Geweben ausgewertet. Sämtliche, die Auswertung der assemblierten Sequenzen betreffenden Programme, wurden selbst entwickelt.

- 45 Alle Sequenzen, die mehr als viermal in jeweils einem der verglichenen Gewebe vorkamen, sowie alle, die mindestens fünfmal so häufig in einem der beiden Gewebe vorkamen wurden weiter untersucht. Diese Sequenzen wurden einem elektronischen Northern (s. Beispiel 2.1) unterzogen, wodurch die Verteilung in sämtlichen Tumor- und Normal-Geweben untersucht wurde (s. Fig. 4a und Fig. 4b). Die relevanten Kandidaten wurden dann mit Hilfe sämtlicher Incyte ESTs und allen ESTs öffentlicher Datenbanken verlängert (s. Beispiel 3). Anschließend wurden die Sequenzen und ihre Übersetzung in mögliche Proteine mit allen Nukleotid- und Proteindatenbanken verglichen, sowie auf mögliche, für Proteine kodierende Regionen untersucht.
- 50

Beispiel 2

- 55 Algorithmus zur Identifikation und Verlängerung von partiellen cDNA-Sequenzen mit verändertem Expressionsmuster

Im folgenden soll ein Algorithmus zur Auffindung über- oder unterexprimierter Gene erläutert werden. Die einzelnen Schritte sind der besseren Übersicht halber auch in einem Flußdiagramm zusammengefaßt (s. Fig. 4b).

60

2.1 Elektronischer Northern-Blot

- Zu einer partiellen DNA-Sequenz S, z. B. einem einzelnen EST oder einem Contig von ESTs, werden mittels eines Standardprogramms zur Homologiesuche, z. B. BLAST (Altschul, S. F., Gish W., Miller, W., Myers, E. W. und Lipman, D. J. (1990) J. Mol. Biol., 215, 403-410), BLAST2 (Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. und Lipman, D. J. (1997) Nucleic Acids Research 25 3389-3402) oder FASTA (Pearson, W. R. und Lipman, D. J. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85 2444-2448), die homologen Sequenzen in verschiedenen nach Geweben geordneten (privaten oder öffentlichen) EST-Bibliotheken bestimmt. Die dadurch ermittelten (relativen oder absoluten) Gewebespezifischen Vorkommenshäufigkeiten dieser Partial-Sequenz S werden als elektronischer Northern-Blot
- 65

bezeichnet.

2.1.1

Analog der unter 2.1 beschriebenen Verfahrensweise wurde die Sequenz Seq. ID No. .90 gefunden, die .9,2 .x stärker
im normalen Ovargewebe als im Tumorgewebe vorkommt.
Das Ergebnis ist wie folgt:

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Elektronischer Northern für SEQ. ID. NO: 90

	NORMAL	TUMOR	Verhaeltnisse
	%Haeufigkeit	%Haeufigkeit	N/T T/N
5	Blase	0.0156	0.0000 undef 0.0000
	Brust	0.0166	0.0056 2.94900.3391
	Duennndarm	0.0061	0.0165 0.37072.6973
	Eierstock	0.0240	0.0026 9.21010.1086
	Endokrines_Gewebe	0.0034	0.0125 0.27173.6805
	Gastrointestinal	0.0038	0.0000 undef 0.0000
10	Gehirn	0.0044	0.0123 0.36002.7779
	Haematopoetisch	0.0027	0.0000 undef 0.0000
	Haut	0.0037	0.0000 undef 0.0000
	Hepatisch	0.0000	0.0000 undef undef
	Herz	0.0011	0.0137 0.077112.9706
15	Hoden	0.0230	0.0000 undef 0.0000
	Lunge	0.0010	0.0000 undef 0.0000
	Magen-Speiseroehre	0.0097	0.0000 undef 0.0000
	Muskel-Skelett	0.0017	0.0060 0.28563.5020
	Niere	0.0136	0.0000 undef 0.0000
20	Pankreas	0.0000	0.0000 undef undef
	Penis	0.0090	0.0267 0.33692.9678
	Prostata	0.0044	0.0106 0.40952.4423
	Uterus_Endometrium	0.0473	0.0000 undef 0.0000
	Uterus_Myometrium	0.0076	0.0068 1.12230.8911
	Uterus_allgemein	0.0611	0.0000 undef 0.0000
25	Brust-Hyperplasie	0.0128	
	Prostata-Hyperplasie	0.0030	
	Samenblase	0.0000	
	Sinnesorgane	0.0000	
	Weisse_Blutkoerperchen	0.0000	
30	Zervix	0.0000	

	FOETUS
	%Haeufigkeit
35	Entwicklung
	Gastrointestinal
	Gehirn
	Haematopoetisch
	Haut
	Hepatisch
40	Herz-Blutgefuesse
	Lunge
	Nebenniere
	Niere
	Placenta
45	Prostata
	Sinnesorgane

	NORMIERTE/SUBTRAHIERTE BIBLIOTHEKEN
	%Haeufigkeit
50	Brust
	Eierstock_n
	Eierstock_t
	Endokrines_Gewebe
	Foetal
55	Gastrointestinal
	Haematopoetisch
	Haut-Muskel
	Hoden
	Lunge
	Nerven
60	Prostata
	Sinnesorgane
	Uterus_n

Analog der unter 2.1 beschriebenen Verfahrensweise wurde die Sequenz Seq. ID No. .3 gefunden die . .10,3. . .x stärker im normalen Ovargewebe als im Tumorgewebe vorkommt.

Das Ergebnis ist wie folgt:

Elektronischer Northern für SEQ. ID. NO: 3

	NORMAL	TUMOR	Verhaeltnisse	
	%Haeufigkeit	%Haeufigkeit	N/T	T/N
Blase	0.0117	0.0153	0.76271.3111	
Brust	0.0153	0.0056	2.72210.3674	10
Duennndarm	0.0153	0.0000	undef 0.0000	
Eierstock	0.0270	0.0026	10.3613 0.0965	
Endokrines Gewebe	0.0170	0.0000	undef 0.0000	
Gastrointestinal	0.0115	0.0000	undef 0.0000	
Gehirn	0.0052	0.0062	0.84001.1905	15
Haematopoetisch	0.0080	0.0000	undef 0.0000	
Haut	0.0110	0.0000	undef 0.0000	
Hepatisch	0.0143	0.0000	undef 0.0000	
Herz	0.0159	0.0000	undef 0.0000	
Hoden	0.0115	0.0117	0.98391.0163	20
Lunge	0.0114	0.0184	0.62091.6105	
Magen-Speiserohre	0.0000	0.0077	0.0000undef	
Muskel-Skelett	0.0120	0.0000	undef 0.0000	
Niere	0.0244	0.0205	1.18960.8406	
Pankreas	0.0116	0.0000	undef 0.0000	25
Penis	0.0120	0.0000	undef 0.0000	
Prostata	0.0044	0.0106	0.40952.4423	
Uterus_Endometrium	0.0405	0.0000	undef 0.0000	
Uterus_Myometrium	0.0076	0.0204	0.37412.6732	
Uterus_allgemein	0.0102	0.0000	undef 0.0000	30
Brust-Hyperplasie	0.0064			
Prostata-Hyperplasie	0.0238			
Samenblase	0.0178			
Sinnesorgane	0.0235			
Weisse_Blutkoerperchen	0.0069			
Zervix	0.0000			
FOETUS				
%Haeufigkeit				
Entwicklung	0.0000			
Gastrointestinal	0.0111			
Gehirn	0.0000			
Haematopoetisch	0.0039			
Haut	0.0000			
Hepatisch	0.0000			
Herz-Blutgefuesse	0.0178			
Lunge	0.0036			
Nebenniere	0.0254			
Niere	0.0124			
Placenta	0.0000			
Prostata	0.0000			
Sinnesorgane	0.0000			
NORMIERTE/SUBTRAHIERTE BIBLIOTHEKEN				
%Haeufigkeit				
Brust	0.0000			55
Eierstock_n	0.0000			
Eierstock_t	0.0101			
Endokrines_Gewebe	0.0245			
Foetal	0.0087			
Gastrointestinal	0.0122			60
Haematopoetisch	0.0057			
Haut-Muskel	0.0292			
Hoden	0.0077			
Lunge	0.0082			
Nerven	0.0050			
Prostata	0.0137			65
Sinnesorgane	0.0000			
Uterus_n	0.0250			

BEST AVAILABLE COPY

DE 198 16 395 A 1

2.1.3

Analog der unter 2.1 beschriebenen Verfahrensweise wurde die Sequenz Seq. ID No. .20 gefunden, die .15. .x stärker
im normalen Ovargewebe als im Tumorgewebe vorkommt.
Das Ergebnis ist wie folgt:

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

BEST AVAILABLE COPY

THIS PAGE BLANK (USPTO)